Münster.1933.N=25

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster (Westf.)
Direktor: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund.

Ueber den Einfluß von Eserin und Acetylcholin auf die Methylenblauentfärbung.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)

vorgelegt von

Paul Fabry
Zahnarzt, aus Nienborg-Westf.

1933

Druck: Heinrich Buschmann, Münster i.W., Drubbel 17/18

Dekan: Prof. Dr. von Szily
Referent: Privatdozent Dr. med. et phil. W. Haarmann
Korreferent: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund

„Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)"

Ueber den Einfluß von Eserin und Acetylcholin auf die Methylenblauentfärbung.

Es ist ein viel umstrittenes Problem, in welcher Weise die vegetative Innervation in die Stoffwechselvorgänge eingreift. In erster Linie ist es der Kohlenhydratstoffwechsel, für den vegetativ-nervöse Einflüsse, soweit der Sympathicus in Betracht kommt, erwiesen sind, soweit der Parasympathicus in Betracht kommt, für wahrscheinlich gehalten werden. Ferner ist vielfach in letzter Zeit die Frage bearbeitet worden, wieweit die Art der Muskelfunktionen und des Muskelstoffwechsels von den vegetativen Nerven aus beeinflußt werden. Offenbar sind Einflüsse des Sympathicus auf den Ruhestoffwechsel der Muskulatur vorhanden [1]). Die Einwirkung parasympatischer Nerven auf Muskelstoffwechsel und Art seiner Funktionen ist besonders im Zusammenhang mit der Erfahrung erörtert worden, daß einige parasympathisch erregende Gifte befähigt sind, bestimmte Arten von Muskulatur zur Verkürzung zu bringen. Gerade die Acetylcholinkontraktur war deshalb für viele physiologische Fragen von höchster Bedeutung, weil sie nach der Mehrzahl der Autoren ohne erhöhten Stoffwechselverbrauch und ohne erhöhte Milchsäurebildung zustande kommt, und auch die übrigen Kennzeichen derjenigen Verkürzungsform hat, die bei niederen Tieren und der glatten Muskulatur als Tonus bezeichnet wird [2]). Dem gegenüber sind einige Befunde am Warmblütermuskel erhoben worden, nach dem auch bei der Acetylcholinkontraktur eine Vermehrung der Milchsäurebildung auftritt. Es sei hier nur darauf hingewiesen, daß auch nach Unterdrückung der Milchsäurebildung die Acetylcholinkontraktur, wenn auch in etwas herabgesetztem Maße, zustande kommen kann, worin ein weiterer Beweis für die Unabhängigkeit der Muskelverkürzung von der Milchsäurebildung zu sehen ist [3]). Unabhängig von der Frage nach der Muskelverkürzung bleibt es offen, ob das Acetylcholin und andere parasympathisch erregende Gifte wie etwa Eserin in die intermediären Stoffwechselvorgänge eingreifen. Dieser Aufgabe galten Untersuchungen des hiesigen Instituts. In unveröffentlichten Versuchen wurde der Einfluß der parasympathischen Gifte auf den anaeroben Kohlenhydratstoffwechsel von Haarmann und Holl untersucht. Die vorliegenden Versuche, welche die Beeinflussung der Dehydrierungsvorgänge durch Acetylcholin und Eserin zum Gegenstand haben, stellen die notwendige Er-

[1]) Vgl. Literatur bei aus dem Bruch: Inaugural-Dissertation Münster-Westf. 1933.
[2]) H. Freund: Klin. Wo. 1932, 137.
[3]) Ledebur: Pflügers Arch. Bd. 230, S. 394, 1932; dort auch Zusammenstellung der Literatur.

gänzung dazu dar, nachdem von Schöne die Veränderung des Sauerstoffverbrauchs von Atropin und Nicotin und von Dalhoff die Beeinflussung der Dehydrierungsvorgänge durch die gleichen Gifte untersucht worden ist. Die Vorgänge sind in der üblichen Weise mittels der Thunberg'schen Methode der Methylenblauentfärbung durchgeführt.

Versuchsserie I.

In der Versuchsserie I wurde zunächst geprüft, auf welche Weise die beiden vegetativen Gifte Eserin und Acetylcholin auf die Gesamtheit der Gewebshydrasen einwirken. Die Versuche sind in Tabelle I zusammengestellt. Es geht daraus hervor, daß die beiden Gifte den Abbau des im Gewebe enthaltenen Nährmaterials fast ganz unbeeinflußt lassen. Man könnte höchstens eine geringe Hemmung der Dehydrierungsvorgänge annehmen. Aus den Versuchen läßt sich nicht ableiten, ob nicht vielleicht ein Teil der Fermentreaktionen beschleunigt, ein anderer Teil gehemmt wird. Als Gesamtleistung könnte somit eine Entfärbungszeit für das Methylenblau sich ergeben, die den Kontrollversuchen ohne Zusatz der beiden Stoffe entspricht. Es ist deshalb erforderlich, die einzelnen fermentativen Vorgänge dadurch getrennt zur Untersuchung zu bringen, daß man jeweils einen abzubauenden Stoff in so hoher Konzentration zusetzt, daß daneben die anderen Abbauvorgänge zurückgedrängt werden. Dieser Aufgabe gelten die nächsten Versuchsreihen.

Tabelle I (ohne Zusatz)
Muskel
Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Eserin			Acetylcholin		
Kontrollversuch	17	26	40	17	31	27
1.10^{-11}				17	32	—
1.10^{-10}	16	—	40	17	32	27
1.10^{-9}	16	24	43	15	—	28
1.10^{-8}	16	25	—	15	32	28
1.10^{-7}	17	26	42	17	33	28
1.10^{-6}	17	26	42	17	33	28
1.10^{-5}	18	27	43	18	33	29
1.10^{-4}	19	28	43	18	33	29
1.10^{-3}	19	28	43	18	34	29

Versuchstier: Frosch

Versuchsserie II.

In dieser Versuchsserie wurde die Dehydrierung der Milchsäure in Gegenwart von Eserin und Acetylcholin durch Zusatz von Laktat verfolgt. Wie aus der Tabelle II hervorgeht, entsprechen die Laktatversuche den Versuchen ohne Zusatz annähernd. Acetylcholin ist vollkommen wirkungslos, während das Eserin bei verschiedenen Tieren eine verschieden starke, aber nicht sehr erhebliche Verzögerung des Laktatabbaus hervorruft. Diese Verschlechterung des Milchsäureabbaus ist nur in einem Eserinversuch stark ausgesprochen.

Tabelle II (Laktat)
Muskel
Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Eserin			Acetylcholin		
Kontrollversuch	15	25	20	20	14	16
1.10^{-11}				20	15	17
1.10^{-10}	18	25	20	20	15	17
1.10^{-9}	18	26	21	20	15	17
1.10^{-8}	18	26	21	20	14	17
1.10^{-7}	23	27	22	20	14	18
1.10^{-6}	22	27	22	20	14	18
1.10^{-5}	22	27	—	20	15	18
1.10^{-4}	23	26	23	20	16	18
1.10^{-3}	23	28	23	20	16	18

Versuchstier: Frosch

Versuchsserie III.

Der Abbau des Glykogens wird gleichfalls durch die beiden Stoffe nur geringfügig herabgesetzt, und zwar ist das Eserin ungefähr gleich stark wirksam wie das Acetylcholin. Da das Glykogen eine ganze Reihe von Veränderungen durchmacht, bis die Dehydrierung einsetzen kann, so ergibt sich aus diesen Versuchen, daß auch die anaeroben Spaltungsvorgänge die vom Glykogen zu Methylglyoxal führen, durch die beiden Stoffe nicht erheblich in Mitleidenschaft gezogen werden.

Tabelle III (Glykogen)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Eserin			Acetylcholin		
Kontrollversuch	44	29	20	16	15	20
1.10^{-11}				16	15	20
1.10^{-10}	44	29	23	15	15	20
1.10^{-9}	44	28	22	15	15	21
1.10^{-8}	45	28	22	17	15	21
1.10^{-7}	45	28	23	17	15	21
1.10^{-6}	47	27	23	17	16	22
1.10^{-5}	47	27	23	17	16	22
1.10^{-4}	49	27	25	17	16	22
1.10^{-3}	48	28	25	18	17	22

Versuchstier: Frosch

Versuchsserie IV.

Von besonderem Interesse ist der Einfluß von Eserin und Acetylcholin auf die Glukoseverwertung in den Organen, da die vegetativ innervierten Organe vorwiegend ihren Energiebedarf durch den Abbau der Glukose decken. In diesen Versuchen wurde geprüft, in welcher Weise der Glukoseabbau im Herzmuskel durch die beiden Verbindungen verändert wird. Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle IV ersichtlich. Aus den Versuchen geht hervor, daß der Glukoseabbau der Herzmuskelgewebe durch beide Stoffe erheblich verschlechtert wird. Das Eserin wirkt in gleichen Gaben stärker als das Acetylcholin. Die Versuche geben uns den Hinweis darauf, daß bei der Schädigung der Herzaktion durch die vegetativen Gifte die Verschlechterung des Glukoseabbaus mitspielt.

Tabelle IV (Glukose)
Herz
Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Eserin			Acetylcholin		
Kontrollversuch	16	19	25	40	16	21
1.10 $^{-11}$				41	17	21
1.10 $^{-10}$	17	—	25	41	18	21
1.10 $^{-9}$	17	20	26	—	18	22
1.10 $^{-8}$	17	21	27	41	18	22
1.10 $^{-7}$	16	20	27	41	17	22
1.10 $^{-6}$	17	20	29	45	19	22
1.10 $^{-5}$	22	21	29	44	20	22
1.10 $^{-4}$	23	21	29	44	20	23
1.10 $^{-3}$	23	24	31	45	20	23
Versuchstier:	Rind		Hund	Hund		Rind

Versuchsserie V.

Der Glukoseabbau in den verschiedenen Organen verläuft nicht in gleicher Weise. Man muß zwei Abbaumechanismen unterscheiden, je nachdem Phosphorsäure bei der Glykolyse beteiligt ist oder nicht. Im Gegensatz zur Herzglykolyse vollzieht sich die Hirnglykolyse auch in Abwesenheit von Phosphat. Die Beeinflussung der Methylenblauentfärbung durch Glukose im Hirngewebe zeigt, wie aus Tabelle V hervorgeht, erhebliche Unterschiede im Wirkungsmechanismus der untersuchten Verbindungen. Eserin hemmt die Hirnglykolyse bereits in der schwächsten von uns verwendeten Konzentration von 10^{-10} sehr erheblich. Mit ansteigender Konzentration nimmt dann der hemmende Einfluß ab. Bei einer Konzentration von 10^{-8} ist in den meisten Fällen die Hemmung ganz verschwunden. Darüber hinaus wird sogar in einzelnen Versuchen der Glukoseabbau angeregt. In diesem Minimum der Enftärbungszeit tritt dann erneut eine zunehmende Verschlechterung der Glukoseverwertung auf. Das zweite Maximum der Hemmung liegt dann im Allgemeinen bei 10^{-5} bis 10^{-4}. Geht man mit der Konzentration in die Höhe, so wird die Verzögerung der Methylenblauentfärbung wieder geringer. Ein ähnliches Wirkungsbild zeigt das Acetylcholin mit dem Unterschied, daß hier lediglich ein Maximum der Hemmungswirkung auftritt und zwar in der Konzentration von 10^{-6} bis 10^{-5}. Nach beiden Seiten fallen die Werte für die Entfärbungszeiten ab. Jedoch

nur in zwei von vier Versuchen kommt es zu einer Steigerung des Glukoseabbaues und zwar in Versuch 3 und 4 bei der Konzentration von 10^{-10} bis 10^{-7}. Dieser mehrphasische Kurvenverlauf bei den Hirnglykolyseversuchen dürfte in der Weise zu denken sein, daß bestimmte Zwischenreaktionen der Glukosespaltung durch bestimmte Giftkonzentrationen entweder beschleunigt oder verzögert werden.

Tabelle V (Glukose)
Hirn
Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Eserin					Acetylcholin			
Kontrollversuch	25	28	24	26	23	21	28	27	29
1.10^{-11}						21	30	27	27
1.10^{-10}	29	32	25	36	28	24	29	23	25
1.10^{-9}	28	32	24	34	24	29	29	22	25
1.10^{-8}	26	30	22	24	19	30	—	21	24
1.10^{-7}	27	31	24	25	20	—	30	25	23
1.10^{-6}	28	31	29	26	21	32	37	28	29
1.10^{-5}	30	33	31	31	22	22	27	30	35
1.10^{-4}	30	33	31	25	29	22	28	25	33
1.10^{-3}	26	29	28	26	21	22	27	23	29

Versuchstier: K a l b

Versuchsserie VI—VIII.

Bei den bisherig besprochenen Versuchen wurde als Fermentmaterial frisches Gewebe ohne weitere Vorbehandlung verwendet. Im Folgenden wurden einige Fermentreaktionen untersucht, die auch in, im Wasser extrahierten Muskelgewebe vor sich gehen. Geprüft wurde der Abbau der Bernsteinsäure, Glyzerinphosphorsäure und Hexosediphosphorsäure. Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle VI—VIII zu ersehen. Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die Dehydrierung der Bernsteinsäure und der Hexosediphosphorsäure, die, wie der Abbau des Glykogens und der Glukose, erst nach anaerober Spaltung des Hexosediphosphamoleküls zu einfachen Verbindungen beginnt, ungestört verläuft. Bei der Dehydrierung der Glyzerinphosphorsäure ist Acetylcholin ohne jede Einwirkung. Eserin führt zu einer Hemmung der Dehydrierung. Das Maximum der Verzögerung liegt bei den mittleren Konzentrationen. Höhere Konzentrationen verringern die Hemmungswirkung etwas.

Tabelle VI (Bernsteinsäure)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Eserin			Acetylcholin		
Kontrollversuch	31	30	29	16	18	17
10^{-11}				18	18	17
10^{-10}	30	30	29	17	18	17
10^{-9}	32	30	29	17	18	18
10^{-8}	33	31	30	17	18	18
10^{-7}	33	31	30	17	18	17
10^{-6}	33	—	30	—	18	18
10^{-5}	33	31	30	17	18	18
10^{-4}	33	31	30	17	18	18
10^{-3}	34	31	30	17	18	18

Versuchstier: Kaninchen

Tabelle VII (Hexosediphosphorsäure)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Eserin			Acetylcholin		
Kontrollversuch	50	36	16	17	23	28
10^{-11}				18	23	28
10^{-10}	49	36	16	—	23	28
10^{-9}	49	37	18	18	24	28
10^{-8}	50	38	19	18	24	29
10^{-7}	51	37	19	18	24	29
10^{-6}	51	38	19	18	24	29
10^{-5}	51	38	19	18	25	29
10^{-4}	52	—	19	17	24	28
10^{-3}	52	39	20	17	23	28

Versuchstier: Kaninchen

Tabelle VIII (Glyzerinphosphorsäure)

Muskel

Entfärbungszeit in Minuten.

Konzentration	Eserin			Acetylcholin	
Kontrollversuch	19	40	15	16	23
1.10^{-11}				—	23
1.10^{-10}	18	41	15	16	23
1.10^{-9}	18	43	14	16	23
1.10^{-8}	20	45	16	16	23
1.10^{-7}	22	46	16	18	23
1.10^{-6}	21	44	15	18	23
1.10^{-5}	19	44	19	18	23
1.10^{-4}	19	44	18	18	24
1.10^{-3}	—	43	16	18	24

Versuchstier: Kaninchen

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von zwei vegetativen Giften, von Eserin und Acetylcholin, auf einige Dehydrierungsvorgänge im Gewebe untersucht. Im Allgemeinen entsprechen sich die beiden Verbindungen in ihrem Wirkungsbild. Sie lassen die meisten fermentativen Vorgänge unbeeinflußt. Das gilt für den Abbau des Glykogens, der Milchsäure, Bernsteinsäure und Hexosediphosphorsäure. Besonders hervorzuheben ist das unterschiedliche Verhalten der Herzglykolyse und Hirnglykolyse bei Gegenwart der beiden Stoffe. Die Herzglykolyse wird gehemmt, die Hirnglykolyse dagegen bei gewissen Konzentrationen gesteigert. Besonders eigenartig ist der Reaktionsablauf bei verschiedenen Verdünnungsgraden der Gifte. Beim Eserin treten zwei Maxima der Hemmungswirkung in Erscheinung, die einmal bei den sehr starken Verdünnungen und dann bei den höheren Konzentrationen liegt. Beim Acetylcholin gibt es nur ein Maximum der Verzögerungswirkung. Die Versuche haben den Nachweis erbracht, daß zwei verschiedene am vegetativen System angreifende Mittel, die beide Erregung des parasympathischen Systems hervorrufen, den Stoffwechsel nicht in allen Fällen in der gleichen Richtung beeinflussen. Durch diese Verschiedenheit der Stoff-

wechselwirkung lassen sich Unterschiede im Wirkungsbild der verschiedenen am gleichen System angreifenden Mittel erklären. Damit steht im Einklang, daß auch nach den Untersuchungen von Dalhoff und Schöne das Nicotin, das gleichfalls im Allgemeinen im Sinne einer parasympathischen Erregung wirkt, einen eigenen nur ihm zukommenden Einfluß auf die Stoffwechselvorgänge hat, und daß das Atropin als parasympathisch lähmendes Mittel zwar die Mehrzahl der Nicotinwirkungen in entgegengesetzter Richtung beeinflußt, andererseits aber in einigen Fällen die gleiche Wirkungsrichtung hat. Aus der Zusammenstellung von Schöne geht hervor, daß durch die von ihm benutzten parasympathischen Gifte die Vorgänge bei der Oxydation einerseits und bei der Dehydrierung andererseits keineswegs in der gleichen Richtung, sondern sehr oft entgegengesetzt beeinflußt werden. Ein abschließendes Urteil über die Beeinflussung des Gewebsstoffwechsels durch Acetylcholin und Eserin wird also erst dann möglich sein, wenn auch ihre Einwirkung auf den Sauerstoffverbrauch klargestellt ist.

Lebenslauf.

Am 28. Juni 1903 wurde ich zu Nienborg (Westf.) als Sohn des Kaufmanns Joseph Fabry geboren. Zunächst besuchte ich die Volksschule und dann die Rektoratsschule zu Ahaus. Seit 1918 war ich am Gymnasium zu Burgsteinfurt, wo ich im Jahre 1923 mein Abitur machte. Bis zum Herbst 1926 belegte ich bei der juristischen Fakultät. Dann studierte ich Zahnheilkunde und machte im Herbst 1928 mein Physikum und im Jahre 1932 mein Staatsexamen.